

FOSFATASI ALCALINA SL (IFCC)

Metodo cinetico
Reagenti liquidi pronti all'uso



REF. 4183 2x 50 ml
REF. 4182 2x100 ml

COMPANY WITH
QUALITY SYSTEM
ISO 9001 - ISO 13485
Certified by IMQ

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

USO PREVISTO

Determinazione quantitativa della fosfatasi alcalina (ALP) nel siero e nel plasma con metodo ottimizzato secondo IFCC.

PRINCIPIO

L'enzima fosfatasi alcalina idrolizza il p-nitrofenilfosfato (4-NPP) rilasciando il p-nitrofenolo (4-NP) il cui tasso di formazione può essere misurato spettrofotometricamente a 405 nm per quantificare l'attività dell'enzima presente nel campione.

CAMPIONE

Siero, plasma con eparina. Non usare altri anticoagulanti come EDTA, citrato ed ossalato in quanto inibiscono l'enzima. Evitare campioni emolizzati.

I campioni tenuti a temperatura ambiente mostrano un leggero incremento nell'attività, che varia dallo 1% in 6 ore fino al 3-6 % dopo 1-4 giorni. Anche i campioni refrigerati mostrano un incremento nell'attività. Nel congelamento l'attività viene depressa, ma riprende lentamente dopo scongelamento.

COMPONENTI FORNITI

Reagente (A) ALP Volume = 40/80 ml	Tampone AMP Ioni Magnesio Ioni zinco EDTA	500 mmol/l 2 mmol/l 1 mmol/l 2 mmol/l
Reagente (B) ALP Volume = 10 ml	p-nitrofenilfosfato	10 mmol/l

I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata in etichetta se conservati a 2-8°C e protetti dalla luce. Non congelare. Una volta aperti, i reagenti sono stabili 2 mesi a 2-8°C se sono state evitate contaminazioni. Conservare i flaconi chiusi quando non in uso.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Reagenti liquidi, da portare a temperatura ambiente (15-25°C) prima dell'uso.

Per l'utilizzo come monoreagente: aggiungere una parte di Reagente (B) a 4 parti di Reagente (A).

La soluzione di lavoro (A+B) è stabile 1 settimana a 2-8°C se conservata ben chiusa, al riparo dalla luce.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Regolamento (CE) 1272/2008 (CLP):

Reagente (A):

EUH210 Scheda di sicurezza disponibile su richiesta.

Reagente (B):

EUH210 Scheda di sicurezza disponibile su richiesta.

EUH208 Contiene MIT, può provocare una reazione allergica.

Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. A scopo cautelativo è opportuno evitare il contatto con la pelle e l'ingestione. Utilizzare le normali precauzioni previste in laboratorio. Smaltire i rifiuti secondo le norme locali vigenti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda: 405 nm
Cammino ottico: 1 cm
Temperatura: 37°C
Lettura: contro acqua distillata
Metodo: cinetica in incremento

Utilizzo come monoreagente:

pipettare:

Soluzione di lavoro (A+B) 1000 µl
campione 25 µl

Mescolare, incubare a 37°C per 1 minuto, leggere l'assorbanza iniziale contro acqua. Effettuare 3 letture a distanza di 60 secondi. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto (ΔA/min).

Utilizzo come bireagente:

pipettare:

Reagente (A) 1000 µl
campione 25 µl

agitare e dopo 1 minuto aggiungere:

Reagente (B) 250 µl

Mescolare, incubare a 37°C per 1 minuto, leggere l'assorbanza iniziale contro acqua. Effettuare 3 letture a distanza di 60 secondi. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto (ΔA/min).

La presente metodica descrive l'utilizzo del kit in manuale.

I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente.

Per l'utilizzo con analizzatori automatici, consultare le applicazioni specifiche.

CALCOLO DEI RISULTATI

Effettuare il calcolo in Unità/litro moltiplicando il ΔA/min per il fattore come di seguito indicato:

$$ALP (U/L) = \Delta A/min \times 2757$$

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Adulti:

Uomini 20-50 anni: 53 - 128 U/L
Donne 20-50 anni: 42 - 98 U/L
Uomini > 60 anni: 56 - 119 U/L
Donne > 60 anni: 53 - 141 U/L

Bambini:

1 - 30 giorni: 48 - 406 U/L
1 mese - 1 anno: 124 - 341 U/L
1 - 3 anni: 108 - 317 U/L
4 - 6 anni: 96 - 297 U/L
7 - 9 anni: 69 - 325 U/L
10 - 12 anni: 51 - 332 U/L
13 - 15 anni: 50 - 162 U/L
16 - 18 anni: 47 - 119 U/L

Femmina

48 - 406 U/L
124 - 341 U/L
108 - 317 U/L
96 - 297 U/L
69 - 325 U/L
51 - 332 U/L
50 - 162 U/L
47 - 119 U/L

Maschio

75 - 316 U/L
82 - 383 U/L
104 - 345 U/L
93 - 309 U/L
86 - 315 U/L
42 - 362 U/L
74 - 390 U/L
52 - 171 U/L

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire gli intervalli di riferimento in relazione alla propria popolazione.

CONTROLLO DI QUALITÀ

E' necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso. A tale scopo si consiglia l'uso dei sieri di controllo: PRECISENORM (REF.6000) e PRECISEPATH (REF.6001).

PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità: la sensibilità del metodo è: 15 U/L.

Linearità: il metodo è lineare fino a 800 U/L. Per valori superiori, diluire i campioni 1:10 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato per 10.

Precisione nella serie:

	Livello 1	Livello 2
Media (U/L)	84.40	222.40
DS	2.41	5.74
CV %	2.86	2.58

Precisione tra le serie:

	Livello 1	Livello 2
Media (U/L)	86.66	210.39
DS	2.66	6.08
CV %	3.07	2.89

Interferenze: la bilirubina non interferisce fino a una concentrazione di 40 mg/dl. I trigliceridi non interferiscono fino a 900 mg/dl. L'emoglobina non interferisce fino alla concentrazione di 400 mg/dl.

Il glucosio non interferisce fino a 500 mg/dl.

Correlazione con metodo di riferimento:

$$Y = 1.0583x + 2.8975 \quad r = 0.9973$$

BIBLIOGRAFIA

1. J.Clin. Chem. Clin. Biochem Vol 21, pp 731-748 (1983).
2. Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin., 44,686 (1986).
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2th Ed., Burtis-Ashwood (1994).
4. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline . Second Edition. EP15-A2

ALKALINE PHOSPHATASE SL (IFCC)

Kinetic Method

Liquid Reagent ready to use



REF. 4183 2x 50 ml
REF. 4182 2x100 ml

COMPANY WITH
QUALITY SYSTEM
ISO 9001 - ISO 13485
Certified by IMQ

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

INTENDED USE

Quantitative determination of alkaline phosphatase (ALP) in serum and plasma in accordance with IFCC recommendations.

PRINCIPLE

The enzyme alkaline phosphatase hydrolyzes the p-nitrophenylphosphate (4-NPP) to releasing the p-nitrophenol (4-NP) whose formation rate can be measured spectrophotometrically at 405 nm to quantify the activity of the enzyme present in the sample.

SAMPLE

Serum, plasma with heparin. Do not use other anticoagulants such as EDTA, oxalate and citrate by inhibiting the enzyme. Avoid hemolyzed samples.

Sera kept at room temperature usually show a slight increase in activity, which varies from 1% over a 6-h period to 3-6 % over a 1 to 4 days period. Even in sera stored at refrigerator temperature, activity increases slowly. In frozen sera, activity decreases but slowly recovers after thawing the serum.

KIT COMPONENTS

Reagent (A) ALP Volume = 40/80 ml	Buffer AMP Magnesium ions Zinc ions EDTA	500 mmol/l 2 mmol/l 1 mmol/l 2 mmol/l
Reagent (B) ALP Volume = 10 ml	p-nitrophenylphosphate	16 mmol/l

The reagents are stable until the expiration date indicated on the label if stored at 2-8°C and protected from light. Do not freeze. Once opened reagents are stable for 2 months at 2-8°C if contamination is avoided. Keep bottles closed when not in use.

REAGENTS PREPARATION

Liquid Reagents, bring Reagent to room temperature (15-25°C) before use.

For **use as monoreagent**: add a part of Reagent (B) to 4 parts of Reagent (A).

The working solution (A+B) is stable 1 week at 2-8°C when stored tightly closed, protected from light.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

EC Regulation 1272/2008 (CLP):

Reagent (A) :

EUH210 Safety data sheet available on request.

Reagent (B) :

EUH210 Safety data sheet available on request.

EUH208 Contains: MIT, May produce an allergic reaction.

Reagent may contain some non-reactive and preservative components. It is suggested to handle carefully it, avoiding contact with skin and swallow. Use the normal precautions required in the laboratory. Dispose of waste according to local laws.

PROCEDURE

Wavelength:	405 nm
Lightpath :	1 cm
Temperature:	37°C
Reading:	against distilled water
Method:	increasing kinetic

Use as monoreagent:

pipette:

Working solution (A+B)	1000 µl
sample	25 µl

Mix, incubate at 37°C for 1 minute, read the initial absorbance against water. Make 3 readings at a distance of 60 seconds. Calculate the average value of the absorbance variations per minute. (ΔA/min).

Use as bireagent:

pipette:

Reagent (A)	1000 µl
sample	25 µl

mix and after 1 minute add:

Reagent (B)	250 µl
-------------	--------

Mix, incubate at 37°C for 1 minute, read the initial absorbance against water. Make 3 readings at a distance of 60 seconds. Calculate the average value of the absorbance variations per minute. (ΔA/min).

This method describes the manual procedure to use the kit.

Reaction volumes can be proportionally modified.

For automated procedure, ask for specific applications.

RESULTS CALCULATIONS

Perform calculation in Units per litre, multiplying the ΔA/min by the factor as it is indicated

$$ALP (U/L) = \Delta A/min \times 2757$$

EXPECTED VALUES

Adults

Men 20-50 years	53 - 128 U/L
Women 20-50 years	42 - 98 U/L
Men > 60 years	56 - 119 U/L
Women > 60 years	53 - 141 U/L

Children

1 - 30 days	48 - 406 U/L
30 days - 1 year	124 - 341 U/L
1 - 3 years	108 - 317 U/L
4 - 6 years	96 - 297 U/L
7 - 9 years	69 - 325 U/L
10 - 12 years	51 - 332 U/L
13 - 15 years	50 - 162 U/L
16 - 18 years	47 - 119 U/L

Female

1 - 30 days	75 - 316 U/L
30 days - 1 year	82 - 383 U/L
1 - 3 years	104 - 345 U/L
4 - 6 years	93 - 309 U/L
7 - 9 years	86 - 315 U/L
10 - 12 years	42 - 362 U/L
13 - 15 years	74 - 390 U/L
16 - 18 years	52 - 171 U/L

Male

1 - 30 days	75 - 316 U/L
30 days - 1 year	82 - 383 U/L
1 - 3 years	104 - 345 U/L
4 - 6 years	93 - 309 U/L
7 - 9 years	86 - 315 U/L
10 - 12 years	42 - 362 U/L
13 - 15 years	74 - 390 U/L
16 - 18 years	52 - 171 U/L

Each laboratory should establish appropriate reference intervals related to its population.

QUALITY CONTROL

You must perform the controls at each kit's use and verify that the values obtained are within the reference range reported in the operating instructions. For this purpose we recommend the use of control sera: PRECISENORM (REF.6000) and PRECISEPATH (REF.6001).

PERFORMANCE

Sensitivity: the sensitivity of the method is: 15 U/L.

Linearity: the method is linear up to 800 U/L. For higher values, dilute the sample 1:10 and multiply the result by 10.

Precision intra-assay:

	Level 1	Level 2
Mean (U/L)	84.40	222.40
SD	2.41	5.74
CV %	2.86	2.58

Precision inter-assay:

	Level1	Level 2
Mean (U/L)	86.66	210.39
SD	2.66	6.08
CV %	3.07	2.89

Interferences: bilirubin does not interfere up to 40 mg/dl. Triglycerides do not interfere up to 900 mg/dl. Hemoglobin does not interfere up to 400 mg/dl.

Glucose up to 500 mg/dl does not interfere.

Correlation against a reference method:

$$Y = 1.053x + 2.8975 \quad r = 0.9973$$

REFERENCES

1. J.Clin. Chem. Clin. Biochem Vol 21, pp 731-748 (1983).
2. Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin., 44,686 (1986).
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2th Ed., Burtis-Ashwood (1994).
4. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline . Second Edition. EP15-A2